
許容濃度クライテリア及び検診項目設定のための複合農薬の 吸入曝露実験

Dose-response relationship of inhaled agricultural chemicals
in farmers and animal experiments

- 代表研究者 産業医科大学学長 土屋 健三郎
President, Univ. of Occupational and Environmental
Health, Japan (UOEH)
Kenzaburo TSUCHIYA
- 協同研究者 産業医科大学医学部教授 児玉 泰
Prof., Dept. of Environ. Health, School of Medicine, UOEH
Yasushi KODAMA
- 産業医科大学産業生態科学研究所助教授 田中 勇 武
Assoc. Prof., Inst. of Ind. Ecolog. Sci., UOEH
Isamu TANAKA
- 産業医科大学産業生態科学研究所教授 吉村 健 清
Prof., Inst. of Ind. Ecolog. Sci., UOEH
Takesumi YOSHIMURA
- 産業医科大学産業生態科学研究所教授 井上 尚 英
Prof., Inst. of Ind. Ecolog. Sci., UOEH
Naohide INOUE

There are few investigations concerning the cumulative toxicity of agricultural chemicals by repeated inhalation. In this study, Wistar male rats were exposed to methomyl powder (mass median aerodynamic diameter (MMAD), 4.4 μm) for single 4-hr exposure, or for 4 hr/day, 5 days/week for 3 months and fenitrothion powder (MMAD, 6.2 μm) for a single 4-hr exposure, or for 2 hr/day, 5 days/week for 3 months. The average exposure concentration was controlled by a dust generator consisting of a continuous fluidized bed with an overflow pipe and a screw feeder. After the repeated exposures, plasma and red cell cholinesterase activities, and lipid concentrations of the rat lungs were measured and histopathological examinations were performed.

For methomyl powder, there was no evidence of cumulative effects on the red cell cholinesterase activity, histopathological changes and lipid concentration in 3-month repeated inhalation. On the other hand, there were also no evidences of cumulative effects on the histopathological changes and lipid concentrations in 3-month repeated exposure to fenitrothion powder. But the plasma and red cell cholinesterase activities significantly decreased with the increasing of the exposure time, and the former did not recover to normal level after the one month of the 3-month exposure to fenitrothion powder.

研究目的

厚生省薬務局の統計調査によれば、農薬散布時の中毒は毎年 100 例程度の発生があり、福岡県宗

像農業改良普及所が実施した農作業と健康に関するアンケート調査によっても、敬遠される作業の第 1 位は農薬散布となっている。その理由とし

て、散布時における農薬への曝露によって、頭痛、頭重、倦怠感などの自覚症状、さらに、農薬による急性、慢性の健康障害についても明確な資料がないため不安であることを挙げている。

現行の農薬取締法は、世界で最も厳しい毒性試験成績を要求しているが、大部分は経口、腹腔、皮下投与による値で、農薬散布や農薬製造時に問題となる吸入毒性についてはガス系農薬の急性毒性に関する値が一部あるのみで、実際に広く利用されている粉剤の農薬については見当たらない。

農薬散布や農薬製造においては、作業環境の大気中に広く散布すると考えられるので、労働環境において勧告されている数多くの有害物質の許容濃度^{1),2)}と同様な許容限界値が農薬取扱者の健康障害を防止する立場から必要と思われる。しかし、その基礎資料となる吸入毒性試験はほとんどなされていない。

このため、ラットを用いて吸入曝露実験を行ない、急性(1日)および繰返し曝露(3か月)による生体へ及ぼす影響を代表的な2種類の農薬について調べることを目的とする。

研究方針

当研究は、次の三つの研究課題に大別して進められた。

1. 粉剤農薬吸入曝露実験に不可欠な曝露期間中一定濃度、一定粒度分布を保持できるダスト発生装置の開発
2. 急性曝露(2時間あるいは4時間曝露)後の生体影響、特にコリンエステラーゼ活性低下へ及ぼす影響
3. 繰返し曝露(2か月あるいは3か月)による生体影響、特に吸入曝露であるため肺を中心に、脂質への影響および病理組織学的検索上記課題について進めてきた研究経過とその成果について報告する。

研究経過とその成果

1. 吸入曝露に用いる農薬の選択

農薬の種類は多数あり、どの農薬についても吸入実験による毒性試験がなされていない。このため、どの農薬から吸入毒性を調べるかについて検討した。

その結果、国内の使用状況、当大学近辺の農家での散布状況および第21回世界労働衛生会議で発表されたイスラエルでの中毒発生結果から、カーバメイト系に近い農薬であるメソミル、およびマツクイムシ防除や東南アジアのマラリア対策で世界的に広く用いられているフェニトロチオンの2種類を用いることとした。

メソミル(日本農薬(株)製、商品名ランネート)およびフェニトロチオン(日本農薬(株)製、商品名スミチオン)は農家での使用状況と同一とするため、そのままの状態で曝露することとした。ランネート粉剤中には、45%のメソミルと55%の鉍物質微粉が含有されており、一方、スミチオン粉剤中には40%のフェニトロチオンが含有されている。まずメソミル粉剤の性状について述べる。

メソミル³⁾は、S-メチル-N-[(メチルカーバモイル)オキシ]チオアセトイミデートで、 $C_8H_{10}N_2O_2S$ で示され、分子量162.2であり、多少の硫黄臭をもつ白色結晶である。溶解度は、25℃の水に5.8g/100gと難溶性であるが、生体側から見れば、可溶性とみなされる。

この農薬は、野菜の咀嚼性害虫防除剤として広く用いられており、1966年デュボン社(米国)によって開発された。ランネートの殺虫作用は、コリンエステラーゼ阻害によるといわれている。

フェニトロチオン³⁾は、O,O'-ジメチル-O-(3-メチル-4-ニトロフェニル)チオフォスフェートで $C_9H_{12}NO_5PS$ で示され、分子量277.25であり、不快臭をもつ黄茶色液体の有機リン系の農薬である。溶解度は水に不溶であるが、アルコール、エステル、ケトンなどには可溶である。1959年住友化学(株)で開発された。稲や果実類をはじめ、広い分野の殺虫剤として使用されており、主作用はコリンエステラーゼ阻害作用である。

2. 吸入実験装置およびダスト発生装置

本実験装置の概略をFig.1に示す。流動層へ導かれた乾燥空気により、流動層中の農薬微粉は流動層頂部から曝露チャンバーへと導かれる。曝露チャンバーは容積0.43m³(Fig.2参照)で、全流入空気量Qは150l/minとした。このため換

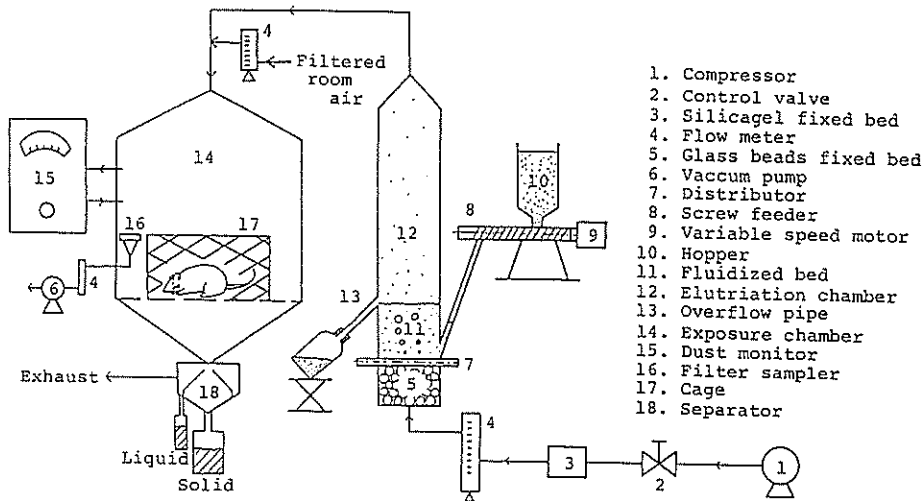


Fig. 1. Schematic diagram of dust exposure system.

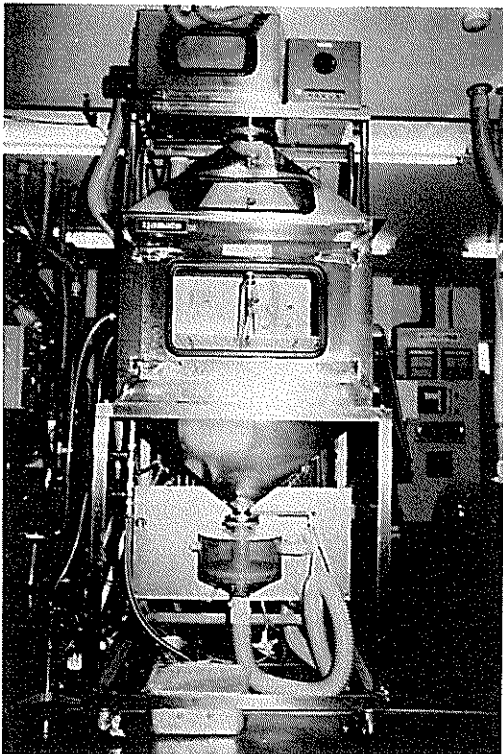


Fig. 2. Exposure chamber.

気回数は 21 回/hr となり、飼育条件としては良好であった。また、曝露チャンバーは恒温恒湿の部屋に設置されており、温度 $24 \pm 1^\circ\text{C}$ 、湿度 $50 \pm$

10% に保たれている。

農薬微粉はスクリーフィーダーを用いて流動層 (Fig. 3 参照) に定量的に供給するが、農薬微粉単独では一定速度の定量供給が困難である。このため本システムでは、 $250 \mu\text{m}$ ($210\text{--}297 \mu\text{m}$) の球形ガラスビーズ粒子中に農薬微粉を混合し、供給することによって一定速度での定量供給を可能にした。供給された農薬微粉とガラスビーズは流動層において下部から導入された乾燥空気によって激しくかくはんされ、単一の粒子に分散した後、微粉とガラスビーズに分級される。流入した空気流量は 25 l/min である。この空気流速に農薬微粉のみが同伴され頂部から曝露チャンバーへ導かれる。一方、ガラスビーズが頂部から同伴するために必要な空気量は 320 l/min であるため、全ガラスビーズ粒子は流動層で農薬微粉の分散を均一にした後、Fig. 1 中の溢流管 13 へ流出する。

このため、あらかじめ決められた農薬微粉とガラスビーズ粒子の混合比 C_f と単位時間当たりの溢流ガラスビーズ量 $R \text{ mg/min}$ から、次式を用いて農薬微粉の発生量 $V \text{ mg/min}$ が推算できる。

$$V + R = F \quad (1)$$

$$R = (1 - C_f)F \quad (2)$$

$$\therefore V = C_f F = C_f R / (1 - C_f) \quad (3)$$

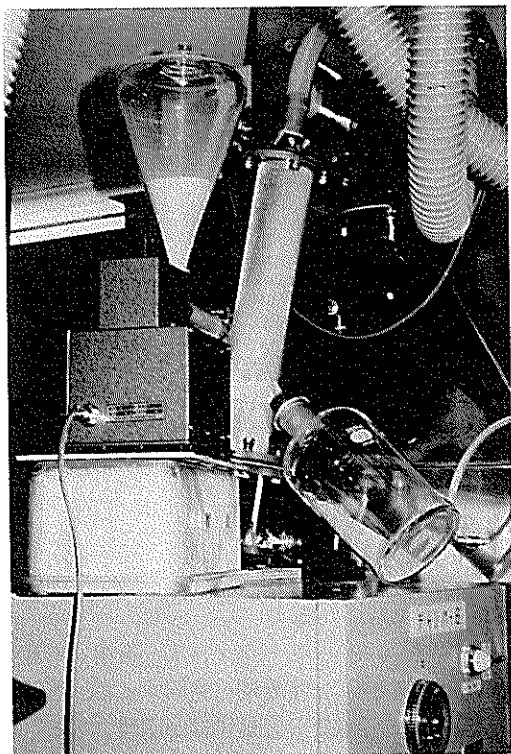


Fig. 3. Fluidized bed generator.

ただし、 F は混合された粒子群，すなわち，ガラスビーズ粒子と農薬微粉の供給速度 (mg/min) である。

通常の混合比 C_f は 2% 以下であり，(3) 式から

V はほぼ $C_f R$ で推算できる。これよりダスト発生装置からの発生濃度 m_f は次式で示される。

$$m_f = C_f R \times 10^3 / Q \text{ (mg/m}^3\text{)} \quad (4)$$

このようにコントロールされた農薬微粉は，曝露チャンバーへ導入される。

チャンバー内の曝露濃度は光散乱法により常時監視，記録され，あるレベル以上になるとスクリュューフィーダーが停止するような ON-OFF 制御がなされている。

曝露濃度の定量は，曝露チャンバー内に設置したガラス繊維ろ紙上に農薬微粉を一定時間集塵し，JIS Z8808 の方法に従って測定した。

さらに，曝露チャンバー内の粒度分布については，チャンバー内にアンダーセンサンプラーを設置し，所定の流量で吸引し，吸入曝露実験開始前および終了後に測定した。

3. 吸入曝露条件

本実験の吸入曝露条件を Table 1 に示す。

Run No. 1, 3 は 4 時間 1 回の曝露を，Run No. 2 はメソミル粉剤を 1 日 4 時間，週 5 日で 3 か月間曝露した。一方 Run No. 4 は，フェニトロチオン粉剤を 1 日 2 時間，週 5 日で 3 か月間曝露した。それぞれの曝露濃度および粒径分布は Table 1 に示す。アンダーセンサンプラーで測定された粒径分布はほぼ対数正規分布を示した。

メディアン径はそれぞれ $4.4 \mu\text{m}$ と $6.2 \mu\text{m}$ で

Table 1. Exposure conditions.

Run No.	1	2	3	4
Aerosol	Methomyl (Lannate)		Fenitrothion (Sumithion)	
Exposure period	4 hours	3 months	4 hours	3 months
Sacrificed time	0, 1, 2, 4 and 20 hr after exposure	4 hr after 3 mo exposure	0, 1, 4, 24, 48 and 70 hr after exposure	4 hr after 2 and 3 mo exposure and 1 mo clearance
Dust concentration (mg/m ³)	9.9	14.8 ± 4.2	9.5	12.4 ± 6.4
Total exposure time (hr)	4	260 (4 hr/d, 5 d/w)	4	74, 116 (2 hr/d, 5 d/w)
Dust aerodynamic median diameter (μm)		4.4		6.2
Geometric standard deviation		2.9		1.8

吸入性粉塵としては比較的大きかったが、大部分の粒子は肺深部まで到達する径であった。光散乱ダスト濃度計で測定された曝露期間中の濃度記録

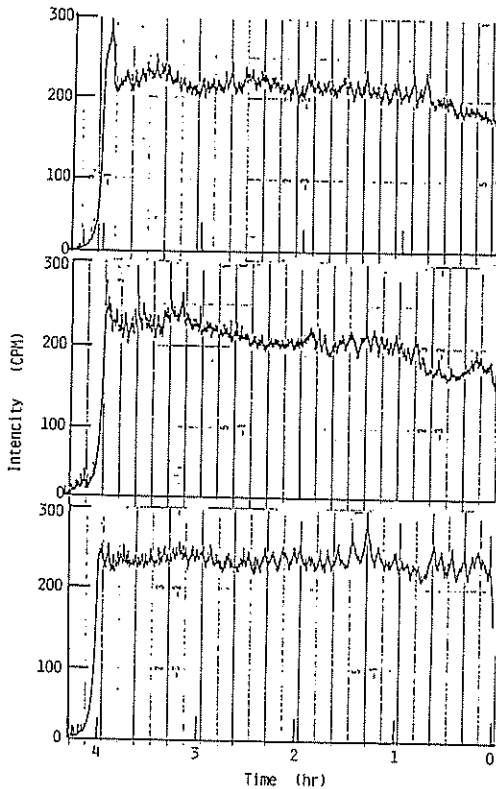


Fig. 4. Dust concentration in exposure chamber monitored by digital dust indicator.

の一例を Fig. 4 に示す。この結果から、曝露期間中一定の曝露濃度を保って実験が遂行されていることが認められ、本研究で試作された曝露チャンバー、ダスト発生装置を用いれば、精度良い粉剤の吸入曝露実験が行なえることが認められた。

4. 吸入実験に用いた動物

本実験に用いた動物は、ウィスター系雄性ラットである。その飼育状態写真を Fig. 5 に示す。図に示すようにラットは群飼いで個別には飼育されていない。これらのラットは曝露期間中、その行動が観察され、Run No. 2, 4 においては1週間ごとに体重が測定された。

体重変化をそれぞれ Fig. 6 と Fig. 7 に示す。図から、曝露群の方が体重増加割合が小さくなっている傾向が見られるが、共に統計学的には有意な差は認められなかった。

5. 急性の吸入曝露実験

コリンエステラーゼ (ChE) 活性

まず、メソミル粉剤を4時間曝露した場合 (Run No. 1) の結果を示す。

ラットをエーテル麻酔した後開胸し、血液を心臓から直接採取して、得られた ChE 活性の変化を Fig. 8 に示す。ChE 活性の測定は Ellman らの方法⁴⁾で蛋白質の測定には Lowry らの方法⁵⁾によった。

血漿 ChE 活性は図に示すように、メソミル粉剤曝露後、著しい低下が見られた。その抑制効果

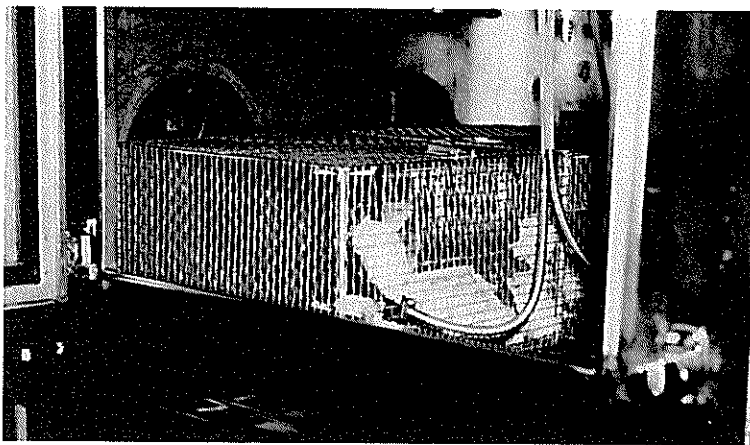


Fig. 5. Rats in an exposure chamber.

は少なくとも4時間持続した。しかし、曝露後20時間ではChE活性はほぼコントロール群のレベルに回復していた。

一方、赤血球ChE活性は、血漿の影響を除くため、生理食塩水で洗浄した赤血球についてChE

活性を測定した⁶⁾。

図中(I)は3回洗い、(II)は8回洗いを示す。(I)においても(II)においても洗浄赤血球におけるChE活性の抑制は、図に見られるように血漿で見られたように明確ではなかった。また、洗浄

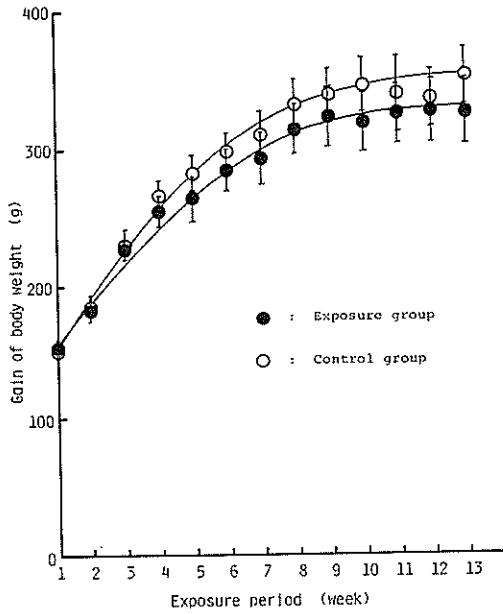


Fig. 6. Gain of body weight during the exposure.

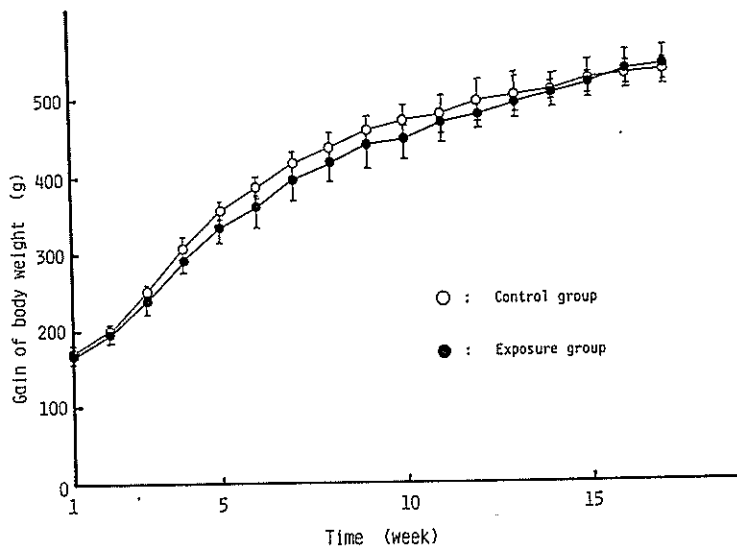


Fig. 7. Gain of body weight during the exposure.

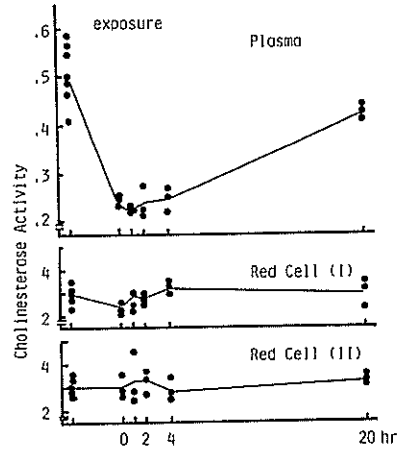


Fig. 8. Cholinesterase activity of plasma (μ moles acetylthiocholine hydrolyzed/min/ml) and red cell (μ moles acetylthiocholine hydrolyzed/min/g Hb) in Run No. 1. Red cell (I) was washed 3 times and Red cell (II) 8 times with isotonic saline after plasma was separated.

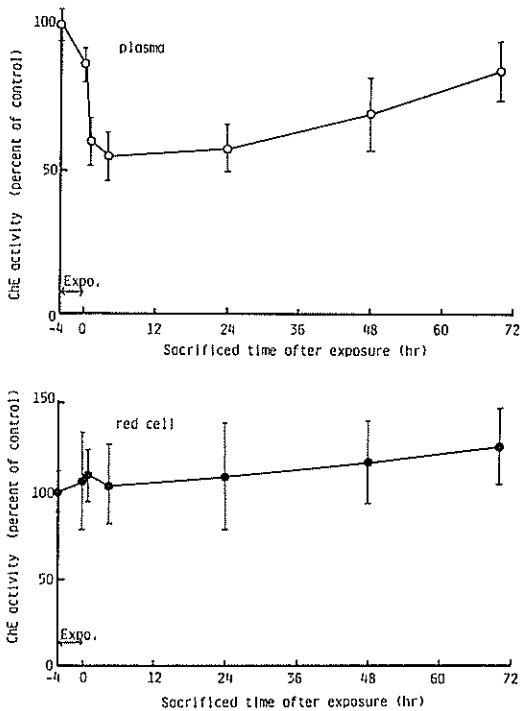


Fig. 9. The change of ChE activity in acute exposure.

回数の影響も見られなかった。

一方、フェニトロチオン粉剤を4時間曝露した場合 (Run No. 3) のChE活性の変化をFig. 9の上図に示す。血漿ChE活性は図に示すように、フェニトロチオン粉剤曝露後、著しい低下が見られた。その抑制効果は少なくとも曝露終了後70

時間持続し、本実験範囲 (70時間のクリアランス期間) 内ではコントロール群のレベルに回復しなかった。

一方、赤血球ChE活性は、血漿の影響を除くため、生理食塩水で洗浄した赤血球についてChE活性を測定した。洗浄赤血球におけるChE活性の抑制はFig. 9の下図に示したように、血漿で見られたような顕著な抑制効果は認められなかった。

両粉剤の急性曝露実験から、共に血漿のChE活性は曝露後4時間程度抑制され、時間経過と共に回復することが認められた。しかし、その回復の速さはメソミル粉剤はほぼ1日であるが、フェニトロチオン粉剤は3日してもまだ正常値に回復しないことがわかった。このことから、繰り返し曝露の場合、ChE活性抑制に関し蓄積性が出てくるのではないかと推測された。

一方、赤血球のChE活性については、両粉剤共顕著な抑制効果を示さなかった。このことから急性曝露の検診項目としては、赤血球のChE活性抑制値を測定するよりも、血漿ChE活性を曝露後4時間以内に測定すれば良いことがわかった。

6. 繰り返し吸入曝露実験

6.1 臓器重量

Table 2にRun No. 2および4における臓器重量の比較を示す。

Run No. 2においては3か月の繰り返し曝露にもかかわらず、肺、肝、腎、脾臓とも曝露群の各重

Table 2. Organ weight of rats exposed methomyl and fenitrothion and controls in Run No. 2 and Run No. 4.

Run No.	Groups	Exposure time	N	Body weight (g±S.D.)	Lung (g±S.D.)	Liver (g±S.D.)	Kidney (g±S.D.)	Spleen (g±S.D.)
2	Control	—	10	343±20	1.2±0.1	7.0±0.5	1.9±0.2	0.7±0.1
	Exposure	3-Mo exp.	10	315±22	1.3±0.2	6.6±0.7	1.9±0.2	0.6±0.1
4	Control	—	4	456±26	1.6±0.1	11.8±0.3	2.8±0.3	0.9±0.2
	Exposure	2-Mo exp.	8	442±26	1.6±0.1	10.4±1.0	2.5±0.2	0.8±0.1
	Control	—	4	502±40	1.7±0.1	12.6±0.7	2.8±0.1	0.9±0.1
	Exposure	3-Mo exp.	8	481±20	1.5±0.1	11.5±0.6	2.8±0.2	0.8±0.1
	Control	—	4	517±18	1.7±0.1	12.0±0.8	2.8±0.2	0.8±0.1
	Exposure	3-Mo exp. and 1-Mo clearance	8	519±26	1.7±0.1	13.2±1.2	2.8±0.3	0.9±0.1

Table 3. Cholinesterase activity in Run No. 2 (mean \pm S.D.).

	Control (n=5)	Exposure (n=5)
Plasma	0.547 \pm 0.078	0.392 \pm 0.037 ($p < 0.005$)
Red cell membrane	0.167 \pm 0.010	0.154 \pm 0.010 ($0.07 < p < 0.08$)

Activity is expressed as μ moles acetylthiocholine hydrolyzed/min/ml (plasma) and μ moles acetylthiocholine hydrolyzed/min/mg protein (red cell membrane).

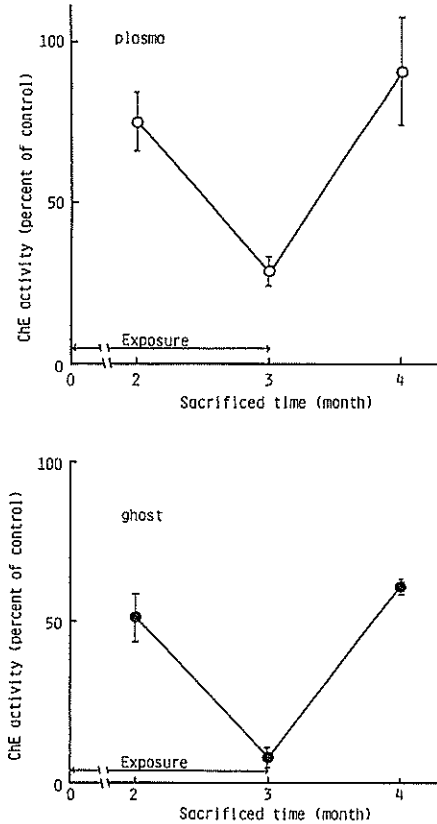


Fig. 10. The change of ChE activity in chronic exposure.

量はコントロール群の値と比較して著しい差異は認められなかった。

一方、Run No. 4 においても2か月間および3か月間の繰返し曝露では、肝臓と肺の重量にコントロールとの間に5%の有意の差が認められたが、他の臓器の重量には著しい差異は認められなかった。

6.2 コリンエステラーゼ活性

ランネット粉剤の繰返し曝露 (Run No. 2) にお

ける ChE 活性の変化を Table 3 に示す。

最後の曝露終了後、4時間おいて採血を行なった。血漿の ChE 活性はコントロール群に比較して抑制されているが、その抑制の程度は Run No. 1 の急性曝露で見られた4時間1回曝露後の4時間目の値と比較すると大きな差異は認められなかった。さらに赤血球膜の ChE 活性についても急性曝露と同様、明らかな抑制は認められなかった。このことは、血漿 ChE 活性の抑制結果から見る限り、メソミル粉剤の繰返し曝露による蓄積性は明確でないことがわかる。このことは、急性(4時間)曝露において血漿の ChE 活性値は20時間後には回復することによるものと思われる。また、繰返し曝露においては、曝露後20時間経過後、次の曝露を行なう。このため次の曝露までに血漿の ChE 活性値は正常に回復し、次の曝露を受ける。

このことからメソミル粉剤による繰返し曝露において、蓄積効果が認められなかったと考えられる。

同様な経過で長時間曝露後も赤血球膜 ChE そのものに明らかな変化は起こっていないことが予測された。

この結果から、メソミル粉剤による繰返し曝露における検診項目としては、急性曝露と同様赤血球 ChE 活性抑制値を測定するよりも、血漿 ChE 活性を測定すべきであると考えられる。

次にスミチオン粉剤の繰返し曝露 (Run No. 4) の場合の ChE 活性の変化を Fig. 10 に示す。

2か月目および3か月目の曝露終了後、4時間放置して急性曝露の場合と同様の方法を用いて採血を行なった。

Fig. 10 の上図に示すように血漿の ChE 活性は曝露期間が2か月、3か月と長期になるほど低下

Table 4. Lipid concentration of rat lung (Run No. 2).

Groups	Triglyceride (mg/g lung)	Cholesterol (mg/g lung)	Phospholipid (mg/g lung)
Control	11.4±1.8	5.8±0.3	21.4±0.3
Exposure	9.2±1.4	6.0±0.2	20.6±1.5

Values are means and S.E. of five rats.

Table 5. Fatty acid compositions of lung phosphatidylcholine (Run No. 2).

Groups	16:0	16:1	18:0	18:1	18:2	18:3	22:6	Others
Control	47.2	7.2	7.0	20.5	11.7	1.0	0.3	5.1
Exposure	45.0	5.6	12.7	20.0	10.7	0.5	0.4	5.2

Values are means expressed as a per cent of the total fatty acids.

Analyses of pooled lung are from five rats per group.

Numbers before the colon represent carbon chain length; those after it represent the number of double bonds.

したが、曝露終了後1か月放置した値はコントロール群の値とほぼ同程度まで回復した。一方、赤血球膜のChE活性については急性曝露の場合と異なった挙動を示し、曝露期間が長くなるにつれてその値は著しく低下した。また、曝露終了後1か月目の値もコントロール値までには回復しなかった。このことから血液ChE活性の抑制結果から見る限り、スミチオン粉剤の繰返し曝露による影響は血漿ChE活性よりも赤血球膜ChE活性の方に顕著に現れることが認められた。

スミチオンの急性曝露と繰返し曝露によるChE活性への影響を比較してみると、血漿ChE活性については、共に曝露中には低下傾向が見られた。しかし、2か月繰返し曝露と単一曝露におけるChE抑制値はほぼ同一あるいは繰返し曝露の方が抑制が弱いとみなせる結果が得られた。しかし、3か月繰返し曝露においては血漿ChE活性値はさらに低下し、繰返し曝露の影響が認められた。さらに曝露を継続すると、ChE活性値は低下すると推測され、繰返し曝露の蓄積性が生じると考えられ、今後検討すべき課題である。

回復についても急性では3日間必要であったが、繰返し曝露においては、曝露後1か月ですでに正常値に回復していた。しかし、回復までに必要な最低日数については曝露後どのくらいかは本実験では不明であるが、曝露量に比例してその回復期間は延びるのか、あるいは3日で回復するの

かなど、これらについては今後の課題である。

一方、赤血球のChE活性については、急性においてはほとんどその影響が認められなかったが、繰返し曝露においては著しい抑制効果が示された。3か月曝露終了時には異常に低下し、曝露終了後1か月後も正常値には回復しなかった。

スミチオン粉剤の繰返し曝露の検診項目としては、赤血球ChE活性低下の方が血漿ChE活性の低下に比較して曝露後の継続性があることから、急性曝露とは逆に赤血球ChE活性値を採用すべきと考えられる。

このように急性と繰返し曝露における傾向が著しく異なることは、繰返し曝露において、赤血球におけるChE活性の抑制機構になんらかの変化が生じたと推測される。非常に興味ある結果であるが、本実験値からだけでは十分な検討ができない。今後慎重なデータの集積を行ない、急性における効果と繰返し曝露による効果との差異を明確にしていく必要がある。

6.3 ラット肺中の脂質濃度とフォスファチジルコリンの脂肪酸組成

NOやO₃の曝露によって肺中の脂質濃度が増加することが知られている⁷⁾。吸入曝露において最初に生体へ侵入する臓器は肺である。このため肺において何らかの異物が侵入することによって、生体防御機構が働くと考えられる。その一つとして肺表面活性物質があり、リン脂質（主にレ

Table 6. Lipid concentration of rat lung in Run No. 4.

Groupes	Exposure period	Triglyceride (mg/g lung)	Cholesterol (mg/g lung)	Phospholipid (mg/g lung)
Control	—	12.2±2.5	6.6±0.6	21.9±1.4
Exposure	2 months	8.7±1.1	6.8±0.4	20.3±1.0
Control	—	7.6±1.2	6.9±0.1	23.4±1.8
Exposure	3 months	10.5±0.6*	6.7±0.2	24.5±1.1

* $p < 0.05$

シチン) で構成されている。メソミル粉剤についても、繰返し曝露 (Run No. 2) によって肺中の脂質濃度および脂肪酸組成が変化することが予測されるため検討した。その結果を Table 4, 5 に示す。

脂質濃度についてはリン脂質、トリグリセライド、総コレステロールについてそれぞれ Fiske ら⁸⁾、Fletcher⁹⁾、Sperry ら¹⁰⁾の方法で測定した。その結果、両粉剤を繰返し曝露しても曝露群とコントロール群間では脂質濃度に著しい差異は認められなかった。脂肪酸組成については薄層クロマトグラフ法で分離し、Sugano らの方法¹¹⁾で測定した。曝露群で不飽和脂肪酸組成 (Palmitoleic 酸 [16:1] と Linolenic 酸 [18:3]) が減少し、飽和脂肪酸組成 (Stearic 酸 [18:0]) が増加する傾向が認められたが、統計学上有意差は認められなかった。

スミチオン粉剤についても、繰返し曝露 (Run No. 4) によって肺中脂質濃度が変化することが予測されるため検討し、その結果を Table 6 に示した。

リン脂質、トリグリセライド、総コレステロールにおいて、コントロール群と2か月、3か月曝露群には著しい差異は認められなかったが、トリグリセライドにおいて3か月曝露群でコントロール値と比較して高値を示したが、その意味については現在検討中である。

6.4 病理組織学的検討

肺、肝、腎、脾の各臓器は計量の後、その一部を10%ホルマリン溶液で固定した。さらに呼吸気道への農薬粉剤の影響を調べるため、Horie らの手法¹²⁾で頭部を分割し、10%ホルマリン溶液で固定した。

繰返し曝露 (Run No. 2) において曝露ラット10匹中3匹の肺中に巣状出血が見られ、さらに曝露された3匹のラットおよびコントロール群中の1匹に大食細胞の集巣が散見された。しかしながら、影響は微小であった。また、頭部および鼻腔などについても検索したが、組織学的に顕著な変化は見られなかった。

一方、スミチオン粉剤の繰返し曝露 (Run No. 4) において、2か月曝露ラット8匹中1匹の肺中に巣状出血が見られたが、そのほかには特に影響は見られなかった。また、頭部および鼻腔などについても検索したが、組織学的に顕著な変化は見られなかった。

このように両粉剤による病理組織学的影響は小さく、血液への影響が主であることがわかった。今後の課題

吸入実験は、経気道的に被試験物質を与え、生体への効果、影響を調べるものである。

従来の経口投与、静注、筋注、腹腔内投与と比較して、その投与量を一定に保つ点にむずかしさがある。しかし、農薬散布や農薬製造においては、呼吸によって、すなわち、吸入によって生体内へ農薬が侵入し、健康影響を生じさせるから、どうしても吸入実験によってその生体影響を調べる必要がある。特に粉剤については、経気道に及ぼす影響、特に肺内での挙動が重要であり、また、肺内では生体の異物に対する防御機構も働き、ある種の処理がなされることが知られている¹³⁾。この第1の関門で処理された後体内へ吸収されるため、他の投与形式で導入されて調べられた生体影響と異なったものになろう。例えば、経口的に胃、腸から体内へ入った化学物質と同一のものが肺から侵入しても、最初に到達した各臓器においてそ

それぞれの生体防御機構で前処理されて体内へ入るので、化学物質の分析において異なった前処理を行なうとその結果が大きく異なるように、同じ物質でもその生体作用は大きく異なると考えられる。このため化学物質の生体影響を調べるにあたって、安易に投与が簡単であるからということでヒトに入る侵入経路を無視して、投与形式を選択し、その結果を出すことは、いたずらに混乱を与えるばかりでなく、誤った方向へ導かれるおそれがある。各実験においてそれぞれの有効な範囲と限界を整理した上で、調査がなされるべきであろう。特に化学物質による経気道器官への健康障害が問題になる場合には、吸入による実験データが唯一信頼できるものとなる。

最近、肺疾患、特に肺癌が増加傾向にある。農業をはじめとする新規化学物質が生産され、経気道的にヒトに侵入する物質が多くなっている。これら化学物質と肺疾患や肺癌の因果関係を調べる際には、吸入実験と疫学調査とが重要となる。吸入実験においては、その曝露濃度、曝露期間、曝露する化学物質の性状を把握する必要がある。特に今後は、大量曝露による急性影響よりも、長期間、低濃度で曝露された場合の繰返しによる生体影響が重要となる。この影響を調査するためには、長期間動物飼育できる良好な環境と、長期間一定の低濃度で、曝露する化学物質の性状を変化させることなく継続した曝露ができることが必要となる。

本研究の成果は、これらの条件を満たしており、農業にとどまらず、今後ますます増加するであろうあらゆる新規化学物質の吸入による生体影響を調べる体制が整ったと思われ、成果が期待される。

謝 辞

本研究を遂行するにあたり、吸入実験における飼育において、鬼塚勝一氏（本学動物センター）、血液検査において伊規須英輝助教授（本学環境中毒学）、石松維世嬢（本学労働衛生工学）に、病理組織学的検討において堀江昭夫教授、原武讓二講師（本学第一病理学）、さらに肺内の脂質測定において長 修司教授（福岡女子大学・家政学）に多

大なお協力を願った。ここに記して謝意を表します。

また本研究の遂行は、日産科学振興財団のご援助があって初めて遂行できたものであり、厚くお礼申し上げます。

研究発表

- 1) Tanaka, I. and Akiyama, T.: A New Dust Generator for Inhalation Toxicity Studies, *Ann. Occup. Hyg.*, 28: 157-162 (1984).
- 2) Tanaka, I., Igisu, H., Kodama, Y., Inoue, N., Akiyama, T., Tsuchiya, K.: Exposure System for Inhalation Toxicity Studies of Agricultural Chemicals, The 11th Asian Conference on Occupational Health (Manila, Philippines) (1985).
- 3) Igisu, H., Tanaka, I., Fujishiro, K., Mori, K., Inoue, N., Kodama, Y., Tsuchiya, K.: Effect of Methomyl (Lannate) Dust on Plasma and Red Cell Cholinesterase Activity, The 11th Asian Conference on Occupational Health (Manila, Philippines) (1985).
- 4) 森 晃爾, 藤代一也, 田中勇武, 伊規須英輝, 井上尚英, 児玉 泰: ランネートダスト曝露のコリンエステラーゼ活性への影響, 第3回産業医科大学学会総会(北九州)(1985).
- 5) 石松維世, 田中勇武, 秋山 高, 伊規須英輝, 井上尚英: スミチオン粉剤の吸入曝露実験—コリンエステラーゼ活性—, 第4回産業医科大学学会総会(北九州)(1986).
- 6) 田中勇武, 井上尚英, 堀江昭夫, 長 修司: メンシル粉剤の吸入曝露実験, 日本衛生学雑誌, 42: 408 (1987).
- 7) Tanaka, I., Igisu, H., Haratake, J., Cho, S., Mori, K., Fujishiro, K., Inoue, N., Horie, A. and Akiyama, T.: Cumulative Toxicity Potential of Methomyl Aerosol by Repeated Inhalation, *Am. Ind. Hyg. Assoc. J.*, 48: 330-334 (1987).
- 8) 石松維世, 田中勇武, 秋山 高, 伊規須英輝, 井上尚英: 有機リン粉剤の吸入曝露実験, 日本産業衛生学会九州地方会(久留米)(1987).
- 9) 田中勇武, 伊規須英輝, 長 修司, 秋山 高: 粉剤農薬の吸入曝露実験, 第5回エアロゾル科学技術研究討論会(筑波)(1987).
- 10) 石松維世, 伊規須英輝, 田中勇武, 井上尚英, 秋山 高: 粉剤農薬の吸入曝露実験, コリンエステラーゼ活性に及ぼす影響—, 第5回産業医科大学学会総会(北九州)(1987).
- 11) 石松維世, 伊規須英輝, 田中勇武, 井上尚英, 秋山 高: フェニトロチオン吸入ラットのコリンエステラーゼ活性の変化, *J. UOEH*, 9: 379-383 (1987).

引用文献

- 1) 日本産業衛生学会：許容濃度の勧告，産業医学，27: 195-209 (1985).
- 2) American Conference of Governmental Industrial Hygienists: Documentation of the Threshold Limit Values, Cincinnati, Ohio, ACGIH, 257-258 (1980).
- 3) Hayes, W. J.: Pesticides Studied in Man, London, Williams & Wilkins, 365-367 and 455-456 (1982).
- 4) Ellman, G. L., K. D. Courtney, V. Anders and R. M. Featherstone: A New and Rapid Colorimetric Determination of Acetylcholinesterase Activity, *Biochem. Pharmacol.*, 7: 88-95 (1961).
- 5) Lowry, O. H., N. J. Rosebrough, A. L. Farr and R. J. Randall: Protein Measurement with the Folin Phenol Reagent, *J. Biol. Chem.*, 193: 265-275 (1951).
- 6) Igisu, H., Y. Antoku, S. Mawatari and Y. Kuroiwa: Erythrocyte Membrane in Mitochondrial Dystrophy. A Study with Acetylcholinesterase, *J. Neuro. Sci.*, 51: 199-205 (1981).
- 7) 内山 充, 松尾光芳, 嵯峨井 勝編著: 過酸化脂質と生体, 東京, 学会出版センター, 333-354 (1985).
- 8) Fiske, C.H. and Y. Subbarow: The Colorimetric Determination of Phosphorus, *J. Biol. Chem.*, 66: 375-380 (1925).
- 9) Fletcher, M. J.: A Colorimetric Method for Estimating Serum Triglycerides, *Clin. Chim. Acta*, 22: 393-398 (1968).
- 10) Sperry, W.M. and M. Webb: A Reversion of the Schoenheimer and Sperry Method for Cholesterol Determination, *J. Biol. Chem.*, 187: 97-106 (1950).
- 11) Sugano, M., S. Cho, K. Imaizumi and M. Wada: Changes in Phosphatidylcholine and Phosphatidylethanolamine during Hepatic Injury Caused by Carbon Tetrachloride, *Biochem. Pharmacol.*, 19: 2325-2333 (1970).
- 12) Horie, A., J. Haratake, I. Tanaka, Y. Kodama and K. Tsuchiya: Electron Microscopical Findings with Special Reference to Cancer in Rats Caused by Inhalation of Nickel Oxide, *Biol. Trace Elem. Res.*, 7: 223-239 (1985).
- 13) Brain, J.D., D.F. Proctor and L.M. Reid: Respiratory Defence Mechanisms (Part II), New York, Marcel Dekker Inc., 1216 (1977).